

8

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 05-124980

(43)Date of publication of application : 21.05.1993

(51)Int.Cl.

A61K 37/50
A23L 1/30
A23L 2/00
A23L 2/26
A61K 7/00
A61K 7/48
// (A61K 37/50
A61K 31:355)
(A61K 37/50
A61K 31:375)
(A61K 37/50
A61K 37:14)

(21)Application number : 03-311662

(71)Applicant : SNOW BRAND MILK PROD CO LTD

(22)Date of filing : 30.10.1991

(72)Inventor : NIIMOTO YOJI
DOSEMARI SHUNICHI

(54) AGING PREVENTING AGENT

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain an aging preventing agent consisting of a peroxidase and capable of prolonging human life and preventing aging by suppressing in vivo production of peroxilipids causing aging.

CONSTITUTION: The objective aging preventing agent is obtained by blending a peroxidase (preferably lactoperoxidase using cow milk as a feed source), as an active ingredient, preferably at a ratio of 0.1-5wt.%. This agent is preferably combinedly used with vitamin E as an antioxidant and/or lactoferrin. Furthermore, iron ion concentration in the aging agent is kept preferably \leq 50ppm in order to prevent the activity of the lacto peroxidase from the disturbance.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 27.10.1997

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3103167

[Date of registration] 25.08.2000

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 特 許 公 報 (B 2)

(11)特許番号

特許第3103167号
(P3103167)

(45)発行日 平成12年10月23日(2000. 10. 23)

(24)登録日 平成12年 8 月25日(2000. 8. 25)

(51)Int.Cl.⁷

識別記号

F I

A 6 1 K 38/44

A 6 1 K 37/50

A 2 3 L 1/30

A 2 3 L 1/30

Z

2/00

A 6 1 K 7/00

H

2/52

K

A 6 1 K 7/00

W

請求項の数 8 (全 6 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号

特願平3-311662

(22)出願日

平成 3 年10月30日(1991. 10. 30)

(65)公開番号

特開平5-124980

(43)公開日

平成 5 年 5 月21日(1993. 5. 21)

審査請求日

平成 9 年10月27日(1997. 10. 27)

(73)特許権者

000006699

雪印乳業株式会社

北海道札幌市東区苗穂町 6 丁目 1 番 1 号

(72)発明者

新本 洋士

埼玉県川越市旭町 2 丁目13- 2 - 416

(72)発明者

堂迫 俊一

埼玉県浦和市北浦和 5 - 15 - 39 - 616

(74)代理人

100090941

弁理士 藤野 清也

審査官

田村 聖子

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 老化防止剤

1

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】 パーオキシダーゼを有効成分とすることを特徴とする、生体内で過酸化脂質の生成を抑制する老化防止剤。

【請求項 2】 パーオキシダーゼがラクトパーオキシダーゼである請求項 1 記載の老化防止剤。

【請求項 3】 パーオキシダーゼと抗酸化剤及び／またはラクトフェリンとを有効成分とすることを特徴とする、生体内で過酸化脂質の生成を抑制する老化防止剤。

【請求項 4】 抗酸化剤がビタミン E またはアスコルビン酸である請求項 3 記載の老化防止剤。

【請求項 5】 請求項 1 ～ 4 のいずれかにおいて、パーオキシダーゼ含量が 0. 1 ～ 5 重量 % である老化防止剤。

【請求項 6】 老化防止剤中の鉄イオン濃度が 50ppm 以下である請求項 1 ～ 4 のいずれかに記載の老化防止剤。

2

【請求項 7】 経口組成物の形態をしている請求項 1 ～ 6 のいずれかに記載の老化防止剤。

【請求項 8】 外用剤の形態をしている請求項 1 ～ 6 のいずれかに記載の老化防止剤。

【発明の詳細な説明】

【 0 0 0 1 】

【産業上の利用分野】 本発明は、パーオキシダーゼ、特にラクトパーオキシダーゼを有効成分とする、生体内で過酸化脂質の生成を抑制する老化防止剤に関する。

【 0 0 0 2 】

【従来の技術】 現在先進諸国においては寿命が延び、また出生率が低下していることから、社会の高齢化が急速に進んでいる。高齢化が進むことによって直面することになる最も大きな問題は老化である。

【 0 0 0 3 】 老化は加齢に伴って生じる様々な現象、す

なわち、視力低下、記憶障害、運動能力低下、免疫機能低下、聴力障害等の総称である。

【0004】老化の原因としては様々な要因が提示されているが、老化速度を決定する要因として注目されているのが活性酸素やヒドロキシラジカルのような過酸化状態にある物質によるDNAの損傷である。したがって、このような過酸化物質の除去、あるいは生成を防止するような物質は、老化を防止する機能を有する。

【0005】これらの物質としてはスーパーオキシドディスムターゼ等の酵素あるいは抗酸化物質等がある。スーパーオキシドディスムターゼやカタラーゼはそれぞれスーパーオキシドラジカル、過酸化水素を生体内から除去するのに役立っている。また、抗酸化物質は、過酸化物質による老化を防ぐ働きがある。

【0006】活性酸素、酸素ラジカル、ヒドロキシラジカルのような物質の寿命は短い。しかし、生体内では、これらの酸化状態は過酸化脂質中に蓄えられている。過酸化脂質は不飽和脂肪酸分子内にパーオキシド結合を持っており、老化に伴う続発性疾患の原因となることが指摘されている。

【0007】ヒドロキシラジカルや過酸化脂質の生成には遷移金属が重要な役割を果たしている。すなわち、鉄イオンは、マロンジアルデヒドの生成を促進することがJanesら[Bra. Res., 246, 113-119(1982)]によって報告されているし、最近では、Kobayashiら[Agric. Biol. Chem., 54, 69-76 (1990)]によって、鉄(II)、銅(II)イオン存在下で過酸化水素がDNAに損傷を与えることが示されている。したがって、このような遷移金属が生体内に過剰に存在することは、老化の原因となる。

【0008】これまでに提案されている老化防止物質には発毛再伸剤(特開昭55-164616号公報)、ペプチド含有化粧料による皮膚老化防止剤(特開昭56-115707号公報)、植物抽出成分や骨髄成分を含有する食品(特開昭61-15423号公報、特開昭61-82744号公報)などがある。また、過酸化脂質生成防止を目的とした老化防止物質としては大豆サポニン(特開昭56-73025号公報)、アゼピノカルボリン誘導体(特開昭55-65619号公報)が提案されている。

【0009】しかし、これらの物質はいずれも遷移金属由来の過酸化脂質の生成を抑制するものではない。一方、Gutteridgeら[Biochem. J., 199, 259(1981)]は乳中の鉄結合性タンパク質であるラクトフェリンが、鉄依存性の過酸化脂質生成を抑制することを見出した。

【0010】

【発明が解決しようとする課題】本発明者らは、このように過酸化脂質の生成が老化を生ずる原因になるという見地から、生体内において鉄を主とする遷移金属の存在に基づく過酸化脂質の生成を阻止し、老化を防ぐ物質の探索を行なった。すなわち、本発明の課題は、新規で有

効な、生体内で過酸化脂質の生成を抑制する老化防止剤を提供することにある。

【0011】本発明は、このような生体内における鉄を主とする遷移金属の存在に基づく過酸化脂質の生成に着目し、この生成をパーオキシダーゼ、特にラクトパーオキシダーゼが抑制することができるかどうか検討を行った。

【0012】本発明者らは、まず種々の物質を食品に添加して過酸化脂質生成抑制効果を検討したところ、パーオキシダーゼ、特にラクトパーオキシダーゼを0.1~5重量%配合した組成物が生体内で過酸化脂質の生成を抑制することができることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0013】特に、本発明者らは、ラクトフェリンを用いた鉄依存性過酸化脂質生成抑制試験を追試した際に、乳中の酵素、ラクトパーオキシダーゼについても過酸化脂質生成抑制作用があるかどうか検討した。その結果ラクトパーオキシダーゼにラクトフェリンとほぼ同等の過酸化脂質生成抑制効果があることを見出した。

【0014】ラクトパーオキシダーゼの作用は過酸化水素の分解によるヒドロキシラジカル生成の防止である。生体内での過酸化水素の分解においては、カタラーゼやグルタチオンパーオキシダーゼが働くとされている(大澤俊彦、月刊フードケミカル、1991年1月号P59~65)。しかし、ラクトパーオキシダーゼの抗酸化作用についてはこれまで詳しい研究は行なわれていなかった。本発明はこのようなラクトパーオキシダーゼが生体内において鉄依存性過酸化脂質生成抑制作用をもつことを見出したものである。

【0015】

【課題を解決するための手段】本発明は、パーオキシダーゼを有効成分とする、生体内での過酸化脂質の生成を抑制する老化防止剤に関する。さらに、本発明は、パーオキシダーゼと抗酸化剤とを有効成分とする、生体内での過酸化脂質の生成を抑制する老化防止剤に関する。

【0016】パーオキシダーゼには、ミエロパーオキシダーゼ、ホースラディッシュパーオキシダーゼ、アルスロマイセスパーオキシダーゼ等が用いられるが、過酸化脂質生成防止効果及び安全性の点から、ラクトパーオキシダーゼの使用が望ましい。ラクトパーオキシダーゼは哺乳動物の乳から調製することが可能である。給源としては、ウシ、水牛、ヒト、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ウマ等の乳があげられるが、牛乳を用いることが量及び質の面から望ましい。

【0017】ラクトパーオキシダーゼは、公知の物質であって、それを製造するには、公知の方法、例えばスルホン化担体を用いてラクトパーオキシダーゼを吸着し、精製する方法(特開平3-109400号公報)が工業的に有利に利用することができる。

【0018】ラクトパーオキシダーゼは、鉄イオンが存

脂質生成を25%抑制した。1mg/mlのラクトパーオキシダーゼは完全に抑制した。

【0029】〔試験例2〕

ラクトパーオキシダーゼ給餌ラットにおける血中過酸化脂質生成抑制

表2に示す組成の飼料を4週齢SD系雄ラット（日本クレア）5頭づつに与え、6週間飼育後、エーテル麻酔下

で心臓採血を行ない、血液中過酸化脂質濃度をTBA法で測定した。結果を表3に示す。表3にみられるように、試験食中に1%以上ラクトパーオキシダーゼを添加した群では著しい血中過酸化脂質濃度の低下がみられた。

【0030】

【表2】

	標準食	試験食
カゼイン	25%	25%
トウモロコシ油	5	5
塩類混合物*	4	4
ビタミン混合物**	1	1
塩化コリン	0.2	0.2
ウシラクトパーオキシダーゼ		0.5, 1, 2, 4
しょ糖	しょ糖で全量を100%とした	しょ糖で全量を100%とした

* ミネラル混合物MM-2 [Ebihara et al. J. Nutr. 109, 2106 (1979)]

** ハーパーの混合物 [Harper, J. Nutr., 68, 405 (1959)]

【0031】

【表3】

ラクトパーオキシダーゼ量 (%)	血中過酸化脂質濃度（5頭の平均値） (nmol/ml)
0	1.86
0.5	1.68
1	1.24
2	1.30
4	1.32

【0032】なお、試験食中の鉄含量は38ppmであった。試験例1及び2より、ラクトパーオキシダーゼ添加量は0.1～5%が適当であると判断した。

【0033】次に、本発明の実施例を示し、本発明をさらに具体的に説明する。

【0034】

【実施例1】

ラクトパーオキシダーゼ含有老化防止剤

(1) 粉末食品

脱脂粉乳 960g にウシラクトパーオキシダーゼ粉末20

g、ガラクトシルラクトース35%を含むオリゴ糖粉末20gを混合し、粉末食品を調製した。鉄含量は5ppmであった。

【0035】(2) 飲料

表4に示した配合比で混和した原料ミックスに水を加えて全量を100lとし、これをジャケット式タンクで65℃、30分間加熱殺菌後、プラスチック無菌ブローボトルに160mlずつ充填した。鉄含量は1ppmであった。

【0036】

【表4】

ショ糖	11kg
香料	100g
冷凍濃縮果汁（B×45）	12l
ウシラクトパーオキシダーゼ	600g
d1- α -トコフェロール （1%、アルコール溶液）	50ml

【0037】(3) ヨーグルト
水22.1 gに脱脂粉乳 3.6 gを溶解し、95℃で30分間加熱殺菌保持後、37℃に冷却し、市販の*L.bulgaricus*および*S.thermophilus*(いずれもハンセン社)の混合スターターを 0.3 g接種し、37℃で6時間培養した。この培養物に対し、ラクトパーオキシダーゼおよびラクトフェリンをそれぞれ2 gずつ添加し、攪拌、冷却し、ヨーグルト調製用乳酸菌スターターを得た。
【0038】次に乳脂肪 3.5%に標準化した生乳(市販

牛乳)970 gにビタミンE 0.05 gを添加し、90℃で10分間加熱殺菌保持後、37℃に冷却し、先に調製した乳酸菌スターターを30 g接種し、カップに充填後37℃で乳酸酸度0.85%まで培養後直ちに冷却し、プレーンヨーグルトを調製した。ヨーグルトの鉄含量は1.2ppmであった。
【0039】(4) 化粧クリーム
以下の表5に示される組成を混合乳化させてクリームを調製した。
【表5】

多価アルコール脂肪酸エステル	10 g
流動パラフィン	10 g
1, 3-ブチレングリコール	5 g
ステアリン酸	5 g
グリセリン脂肪酸エステル	5 g
ポリエチレングリコール脂肪酸エステル	2 g
ベヘニルアルコール	1 g
メチルパラベン	0.1 g
ブチルパラベン	0.1 g
ラクトフェリン	100mg
ラクトパーオキシダーゼ	100mg
脱イオン水	全量を 100 g に調整

【0040】
【実施例2】
製品投与試験①
実施例1-(2)で調製した飲料を、一群5頭のSD系ラット(4週齢オス)に自由摂取させた。飼料は市販の飼料

(日本クレアCE-2)を与えた。6週間後の血中過酸化脂質濃度を試験例2にしたがって測定した。その結果を表6に示す。
【0041】
【表6】

飲 料	血中過酸化脂質濃度 (nmol/ml)
水	1.76
試験飲料	1.30

【0042】実施例1-(2)の飲料は、血中過酸化脂質を低下させる効果があることが確認された。
【0043】
【実施例3】
製品投与試験②
実施例1-(1)で製造した粉末食品を表7に示すように飼

料に配合し、一群10頭のBALB/C系マウス(5週齢オス)に与え、水、飼料を自由摂取させ、長期飼育して、寿命を測定した。
【0044】
【表7】

	標 準 食 (重量部)	試 験 食 (重量部)
脱脂粉乳	30	
オリゴ糖粉末	0.6	
実施例1-(1)の粉末		30
トウモロコシ油	3	3
塩類混合物(MM-2)	4	4
ハーバーのビタミン混合物	1	1

11	12
塩化コリン しょ糖	0.2 しょ糖で全量を 100とした。
【0045】この試験結果を表8に示す。試験食投与群では寿命が著しく延長され、寿命延長効果があることが	確認された。 【表8】
	平均寿命
標準食	596日
試験食	625日
【0046】	
【発明の効果】本発明の老化防止剤は、老化の原因となる過酸化脂質の生体内での生成を抑制し、寿命を延長さ	せ、老化防止する効果を奏するので高度の機能性組成物として有用である。

フロントページの続き

(51) Int. Cl. ⁷	識別記号	F I
A 6 1 K 7/00		A 6 1 K 7/48
		A 6 1 P 39/06
	7/48	A 2 3 L 2/00 Z
A 6 1 P 39/06		2/26

(56)参考文献	特開 昭63-226243 (J P, A) 特開 平4-210591 (J P, A) 特開 平1-157914 (J P, A) 特開 昭61-200915 (J P, A) Kobayashi et al, 'The effects of metal ions on the DNA damage induced by hydrogen peroxide', Agricultural and Biological Chemistry, 1990年、第54巻、第1号、pp 69-76 中村良、「食品機能化学」、三共出版株式会社、1990年、pp 65-69 Gutteridge, et al, 'Inhibition of lipid peroxidation by the iron-binding protein lactoferrin', Biochemical Journal, 1981年、第199巻、pp 259-261	(58)調査した分野 (Int. Cl. ⁷ , D B 名) A61K 38/00 - 38/58 C A (S T N) M E D L I N E (S T N)
----------	---	--